

# ACIDO MASLÍNICO: EL SECRETO DE LA LONGEVIDAD

En el siguiente artículo se describe el estudio realizado por EG Active Cosmetics para determinar las propiedades del Ácido Maslínico sobre el envejecimiento de la piel, apuntando a su uso en productos cosméticos.

ELENA GRAU

EG ACTIVE COSMETICS, S.L. Diagonal  
539, 08029 Barcelona

## ENVEJECIMIENTO Y PIEL

La piel como órgano barrera que separa y aísla el medio interno del entorno, sufre las consecuencias de los factores intrínsecos del envejecimiento (estrés oxidativo, glicación, inflamación, etc.), así como los debidos al entorno llamados factores extrínsecos (radiaciones ionizantes, UV, polución, tabaco, alimentación, etc.) todos ellos pueden alterar su condición y función.

Como consecuencia de ello, la piel puede sufrir cambios que la conduzcan al foto-envejecimiento, inflamación, disfunción inmune, desequilibrio de la homeostasis epidérmica y otras alteraciones. Recientes estudios en el ámbito de la Epigenética demuestran que con el tiempo, se van acumulando una serie de modificaciones, que van minando el correcto funcionamiento de las células. Nuestros genes pierden la capacidad de responder a las necesidades y por lo tanto de reparar los daños.

Es bien sabido que a partir de los 40 la piel pierde densidad y firmeza: La producción de colágeno, de fibras elásticas y de las sustancias de relleno, que dan volumen a la piel, se reduce drásticamente, se incrementan los procesos pro-inflamatorios

y nuestras células ya no actúan como deberían.

## EPIGENÉTICA

La epigenética es el estudio del conjunto de reacciones químicas y demás procesos que modifican la actividad del ADN pero sin alterar su secuencia. Establece que nuestras propias experiencias pueden marcar nuestro material genético. Estas marcas son cambios reversibles en el ADN o las proteínas que lo empaquetan que hacen que unos genes se expresen o no dependiendo de condiciones exteriores (factores ambientales, estilo de vida, etc.).

Hay tres procesos que participan en la regulación epigenética:

- 1. Metilación del ADN.** Las citosinas se metilan (-CH<sub>3</sub>) contribuyendo a la compactación de la molécula del ADN e inhibiendo la expresión génica.
- 2. Regulación de microARNs.** Los microARNs tienen la capacidad de regular la expresión de los ARN mensajeros codificados por genes, es decir de regular "activar o desactivar" los mensajes génicos que darán lugar a las proteínas.
- 3. Modificación de Histonas.** Las histonas son proteínas básicas de baja masa molecular que forman la Cromatina junto con el ADN. La Cromatina constituye la estructura

organizativa del genoma dentro del núcleo celular. Durante el envejecimiento celular y otras agresiones externas la Cromatina se desorganiza convirtiéndose en cromatina envejecida.

Estos mecanismos epigenéticos (epigenoma) juegan un papel fundamental en el correcto desarrollo y funcionamiento del organismo ya que regulan la expresión génica en células y tejidos en el momento y lugar adecuados.

Lograr descifrar el lenguaje que codifica estas pequeñas modificaciones químicas capaces de regular la correcta expresión de los genes es clave para evitar y quizá revertir el envejecimiento.

## ÁCIDO MASLÍNICO Y PIEL

Para recuperar las condiciones de una piel joven se necesita:

- Potenciar la renovación, redensificación y el grosor de la piel.
- Frenar el deterioro debido a la inflamación
- Rejuvenecer las células y que funcionen como si fuesen jóvenes. Es decir regular la correcta expresión génica.

En este contexto es básico encontrar activos con capacidad para estimular la renovación celular clave, reducir la degradación de la estructura de sostén de la



piel debido a la inflamación e incrementar la juventud/longevidad de las células.

En este artículo expondremos cómo el ácido maslínico es capaz de potenciar y amplificar los procesos naturales de protección y reparación oponiéndose al envejecimiento cutáneo. También demostraremos cómo es capaz de rejuvenecer el epigenoma y por lo tanto las células. Como consecuencia, demostraremos que el *ácido maslínico* es el activo perfecto para la recuperación integral de la piel madura i/o dañada.

### ESTRUCTURA QUIMICA

El ácido *maslínico* es un triterpeno pentacíclico presente en el fruto del olivo, concretamente en la piel (*Olea europaea*), cuyo nombre IUPAC es (4aS, 6aR, 6aS, 6bR, 8aR, 10R, 11R,12aR,14bS)-10, 11-dihydroxy-2,2,6a,6b,9,9,12<sup>a</sup> - heptamethyl-1, 3, 4, 5, 6, 6a, 7, 8, 8a, 10, 11, 12, 13, 14b - tetradecahydricene-4<sup>a</sup>-carboxylic acid.

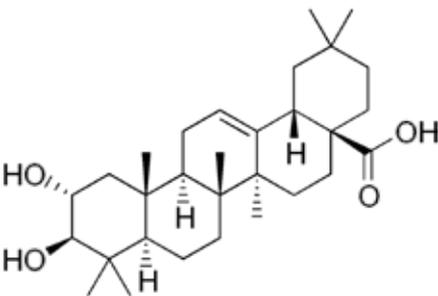


Figura 1. Estructura química del ácido maslínico consistente en un triterpeno pentacíclico con un grupo ácido, 2 grupos OH y 7 grupos metilo.

### ACTIVIDAD

Olive Active *Maslínico* es un activo de excepción para pieles maduras y/o dañadas por su actividad en:

1. Redensificación, reparación y mejora de la morfología de la piel
2. Capacidad protectora y antiinflamatoria.

### 3. Rejuvenecimiento y longevidad celular

#### 1.- REDENSIFICACIÓN, REPARACIÓN Y MEJORA DE LA MORFOLOGÍA DE LA PIEL

##### 1.1.-Estudios in vitro

Estudios in vitro demuestran la capacidad redensificante del ácido maslínico como potenciador y promotor del crecimiento de fibroblastos y queratinocitos, pero nuestro estudio ha querido llegar un paso más allá evaluando la influencia que el ácido juega en nuestros genes.

##### 1.1.1.-Activación de los genes claves en la síntesis de colágeno, elastina, ácido hialurónico y matriz extracelular

Estudio del efecto del Ácido maslínico en la expresión génica en fibroblastos humanos maduros, analizando la expresión de 9 genes relacionados con la síntesis de colágeno, elastina, ácido hialurónico y matriz extracelular.

Los fibroblastos envejecidos fueron cultivados con Ácido maslínico 5µm durante 24 horas. Los resultados se muestran en la Figura 2.

Incremento de la expresión de:

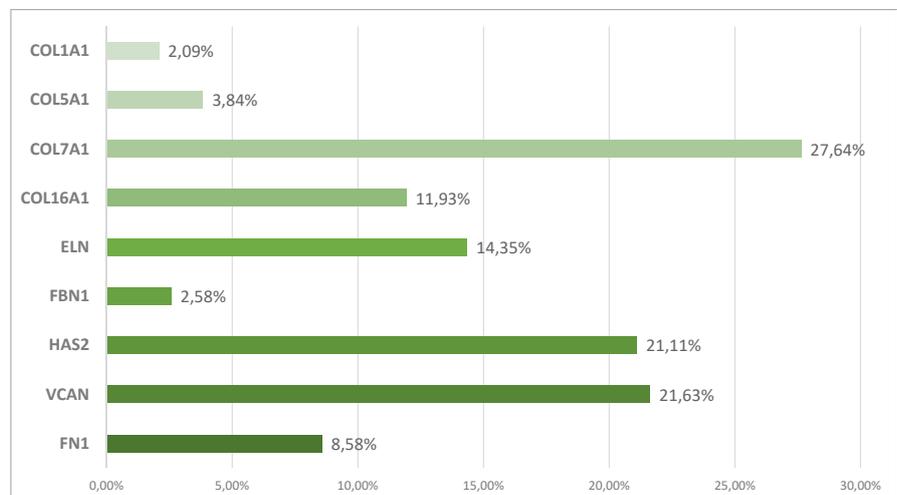


Figura 2.

#### Genes relacionados con la síntesis de colágeno

+2,09% COL1A1 (Colágeno 1)  
+3,84% COL5A1 (Colágeno 5)  
+27,64% COL7A1 (Colágeno 7)  
+11,93% COL16A1 (Colágeno 6)

#### Genes relacionados con la síntesis y maduración de elastina

+14,35% ELN (Elastina)  
+2,58% FBN1 (Fibrilina 1)

#### Gen relacionado con la síntesis de ácido hialurónico

+21,11% HAS2 (Hyaluronan sintasa 2)

#### Genes relacionados con la síntesis y ensamblaje de la matriz extracelular

+21,63% VCAN (Versican)  
+8,58% FN1 (Fibronectina 1)  
+2,58% FBN1 (Fibrilina 1)

##### 1.1.2.-Activación epigenética

Se quiso reforzar estos resultados genéticos con un estudio de activación epigenética de los genes estructurales de la piel.

##### a. Mir-22-3p

Entre los componentes de la matriz extracelular que se pueden regular epigenéticamente están el mensajero de FLNB (filamina B), el cual es esencial para la

interconexión de los constituyentes de la membrana al citoesqueleto de actina y que se regula por el microARN miR-22-5p. Este microARN tiene como dianas génicas a los genes COL1A1 (colágeno 1A1), COL5A1 (Colágeno 5A1), FBN1 (fibrilina1).

Los resultados establecen que el ácido maslínico a 5  $\mu$ M, en condiciones basales de estrés oxidativo ( $H_2O_2$ ) y de estrés fotooxidativo (UVB), disminuye la expresión del miR-22-5p y por lo tanto se traduce en un incremento de la expresión de los genes COL1A1 y COL5A1 y FBN1.

### b. Mir-29-3p

La fibronectina (FN1) está regulada por hsa-miR-29a-3p. FN1 es una glicoproteína multimérica que se encuentra en la superficie celular y en la matriz extracelular que participa en los procesos de adhesión y migración celular así como en los procesos de cicatrización.

Los resultados establecen que el ácido maslínico a 5  $\mu$ M, en condiciones basales de estrés oxidativo ( $H_2O_2$ ) y de estrés fotooxidativo (UVB), disminuye la expresión del miR-29-3p. La disminución de este miRNA se traduciría en un aumento de la expresión de COL1A1, COL1A2, COL3A1, COL4A1, COL5A1 y COL5A2), la elastina (ELN) y también de la fibrilina (FBN).

## 1.2.-Estudio in vivo

Para confirmar la capacidad de OA *Maslínico* en la mejora de la morfología de la piel se realizaron varios estudios in vivo.

### 1.2.1.-Estudio de la acción cosmética re-densificadora

Evaluación de la acción cosmética re-densificadora del producto cosmético (crema al 2% ácido maslínico) a través de un test clínico.

Esta prueba fue realizada por un dermatólogo experto. Panelistas: 20 mujeres, de

edad entre 30 y 55 años; se aplicaron el producto cada día.

Durante este periodo se evaluarán los parámetros clínicos e instrumentales específicos.

### PARÁMETROS INSTRUMENTALES

La hidratación de la piel se mide con un **CORNEOMETER® CM 825**.

La elasticidad y el índice de grosor cutáneo se miden con el elastómetro **CUTOMETER® - MPA 580**.

Las lecturas se hicieron:

- A [t0] (valor basal)
- Después del uso del producto: después de 14 días [t14], después de 28 días [t28] y después de 56 días [t56]

### PARÁMETROS CLÍNICOS

Se realizan lecturas a los 14, 28 y 56 días obteniendo como resultados:

- **Suavidad: Mejora del 60%**
- **Tonicidad: Incremento del 71%**
- **Tersura: Incremento del 67%**
- **Efecto de re-densificación: incremento del 210%**
- **Resultados de Grosor:** el índice de grosor cutáneo mejora un 22% después de usar el producto 56 días (ver Figura 3).
- **Resultados de Elasticidad:** la elasticidad de la piel mejora un 20% después de usar el producto 56 días (ver Figura 4).

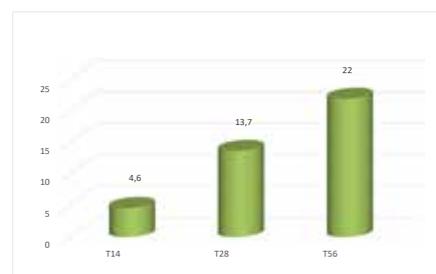


Figura 3. Resultados de Grosor.

- **Resultados de Hidratación:** la hidratación de la piel mejora un 19% después de usar el producto 56 días (ver Figura 5)

### OPINIÓN PANELISTAS

El 90% de los panelistas que participaron en el estudio consideran que el producto mejoró las condiciones de su piel en conceptos de: Hidratación, Suavidad, Uniformidad, Elasticidad, luminosidad y grosor

### 1.2.2.-Estudio de la acción cosmética re-densificadora mediante ecografía

El estudio se lleva a cabo sobre 20 mujeres de edad entre 30 y 60 años. Tanto el producto como el placebo se aplican en media cara siguiendo un procedimiento aleatorizado.

El estudio prevé un período de 2 meses de uso del producto.

### Resultados

El OA *Maslínico*, después de 60 días de tratamiento, aumenta el grosor de la piel en un 6.8% (ver Figura 6). Todos los datos

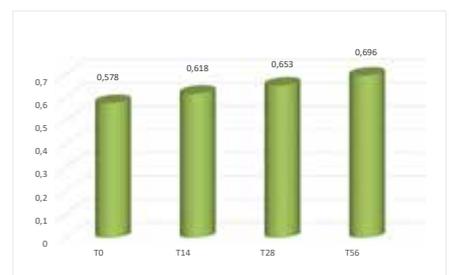


Figura 3. Resultados de Elasticidad.

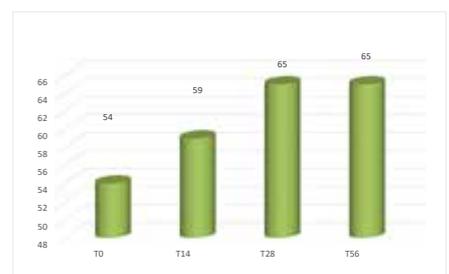


Figura 3. Resultados de hidratación.

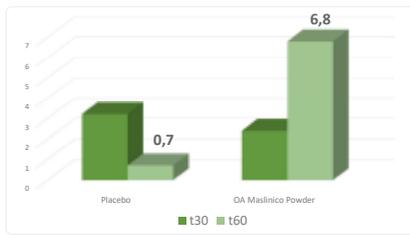


Figura 6.

presentados en este artículo son estadísticamente significativos.

## 2.-CAPACIDAD PROTECTORA Y ANTIINFLAMATORIA

Para evaluar la capacidad protectora y antiinflamatoria se realizaron varios test in vivo e in vitro.

### 2.1.-Estudios in vitro

En los estudios in vitro se midieron varios mediadores productores de la inflamación. El producto actúa:

- Reduciendo la producción de citoquinas pro-inflamatorias:
- Inhibiendo la producción de elastasa leucocitaria

#### 2.1.1.-ESTUDIO DE LA REDUCCIÓN DE LA CITOQUINAS PROINFLAMATORIAS

Se parte de la base de que en los procesos inflamatorios los monocitos producen numerosas citoquinas pro-inflamatorias como el TNF $\alpha$ , la IL-1 $\beta$  y la IL-6 y mediadores de la inflamación como los leucotrienos y las prostaglandinas entre otros. Para demostrar la actividad antiinflamatorio del ácido maslínico se usaron monocitos humanos de sangre periférica y se estudió su actividad sobre la secreción de mediadores pro-inflamatorios secretados tras la activación con el LPS (lipopolisacárido bacteriano) a diferentes concentraciones de ácido maslínico.

#### Resultados:

El ácido maslínico es un potente inhibidor de la producción de TNF $\alpha$ , IL-6 y PGE<sub>2</sub> de forma concentración dependiente (ver Figuras 7-9).

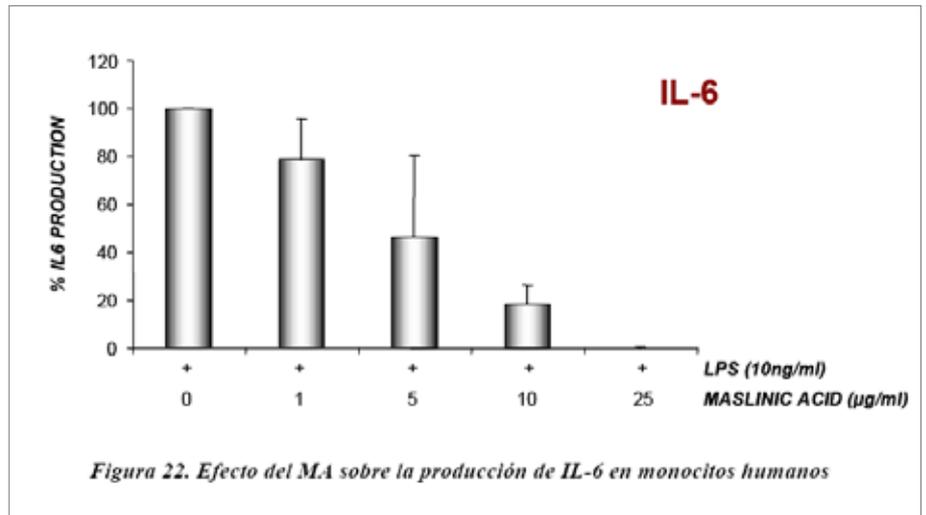


Figura 7. Efecto del ácido maslínico sobre la producción de IL-6

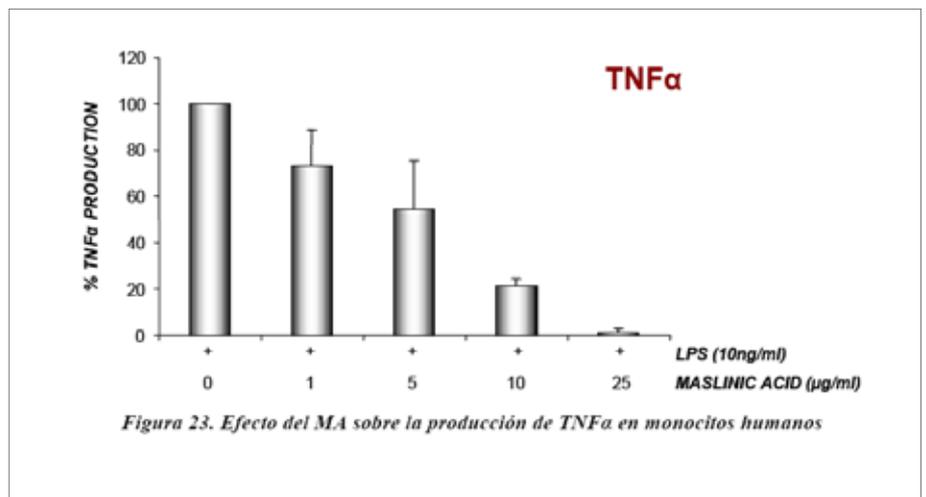


Figura 8. Efecto del Ácido maslínico sobre la producción de TNF $\alpha$ .

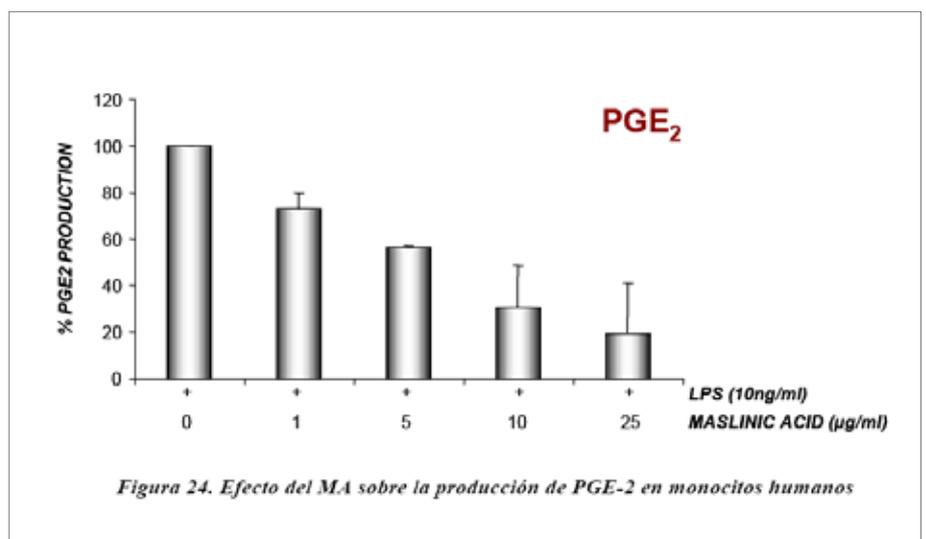


Figura 9. Efecto del Ácido maslínico sobre la producción de PGE<sub>2</sub>.

### 2.1.2.-ESTUDIO SOBRE LA INHIBICION DE LA ELASTASA LEUCOCITARIA

Se utilizó el kit InnoZyme Calbiochem CB016 de Merck para medir la actividad de inmunocaptura de la elastasa de neutrófilos humanos. Este sistema permite un análisis sensible y selectivo para la medida de la elastasa humana de neutrofilos (HNE), una proteasa con capacidad para solubilizar la fibroelastina. Anti-HNE se inmoviliza sobre una placa de 96 pozos y la actividad se mide con un sustrato fluorogénico (ex: 360-380 nanómetros; Em.: 440-460 nanómetros).

Se midió la actividad del ácido maslínico y su sal sódica preparando disoluciones de los mismos en dimetilsulfóxido (DMSO) y tomando las partes alícuotas de las mismas necesarias para obtener las concentraciones finales deseadas (entre 250 y 3,9 micromolar). Una vez realizada la incubación, la posible actividad se mide por fluorimetría. En los controles se adiciona la misma cantidad de DMSO que en las distintas muestras que contienen los posibles inhibidores.

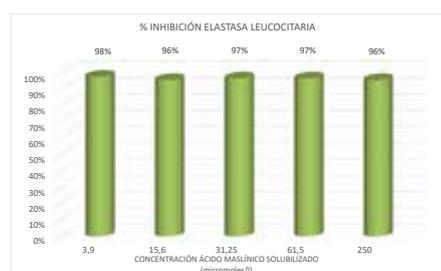


Figura 10. Inhibición de la elastasa leucocitaria por efecto del Ácido maslínico.

Como puede comprobarse en la Figura 10, la IC 50 está por debajo de 3,9 micromolar, lo que sitúa a **este compuesto entre los mejores inhibidores de elastasa conocidos.**

De acuerdo con los Estudios In Vitro nos encontramos ante una nueva molécula

con unas extraordinarias propiedades antiinflamatorias.

### 2.1.3.-ESTUDIO EPIGENÉTICO SOBRE LA INHIBICIÓN DE LA ELASTASA LEUCOCITARIA

La gran capacidad de OA Maslínico como inhibidor de la Elastasa Leucocitaria se ha reconfirmado con el estudio epigenético.

Se ha analizado la expresión de miR-5701 como regulador negativo del gen ELANE (que codifica para la elastasa).

Hemos observado como en condiciones de radiación UVB en las que las células son incubadas inmediatamente con ácido maslínico 5 mM durante 24 h y 48 h se produce un incremento de la expresión de miR-5701. Estos resultados sugieren que ante un estímulo de radiación UVB, el ácido maslínico contribuiría a inhibir la expresión de la elastasa.

### 2.2.-ESTUDIO IN VIVO

Se seleccionaron 20 personas de sexo femenino y masculino, con edades comprendidas entre 18 y 70 años, según los siguientes criterios de inclusión: buena salud en general, sin patologías cutáneas, ausencia de tratamiento farmacológico, compromiso de no variar la rutina diaria, anamnesis negativa por atopía.

Se evaluó el efecto reparador inmediato de una crema después de agredir la piel con un 10 % de lauril sulfato sódico. Este producto en la piel produce irritación, rojez y una cierta lesión.

Uno de los primeros parámetros a evaluar en una piel dañada es la pérdida de agua (deshidratación). La pérdida de agua la podemos medir por técnicas instrumentales mediante el TWEL. El paso de un valor alto de TWEL a un valor normal indica que la función de la barrera epidérmica esta restaurada e indica un

aumento de la hidratación cutánea, mientras que el paso de valor normal de la TWEL a valor alto es un síntoma de que la barrera epidérmica está dañada.

Otro parámetro a evaluar es la rojez que se produce en la piel agredida como consecuencia de la producción de los mediadores inflamatorios, mecanismos de defensa desarrollados por la piel frente a una agresión. En este caso se realizó una medición clínica mediante la valoración de un dermatólogo.

Una vez dañada la piel se utilizaron tres concentraciones distintas del ácido maslínico para comprobar su efecto reparador.

Se evaluó el efecto protector y reparador inmediato de una crema (placebo) con y sin ácido maslínico.

#### Resultados:

Parámetros instrumentales:

##### ■ TWEL:

- **Tras 15 min: Reducción del 56 % vs placebo**
- **Tras 30 min: Reducción del 65% vs placebo**
- **Tras 60 min: Reducción del 66% vs placebo**

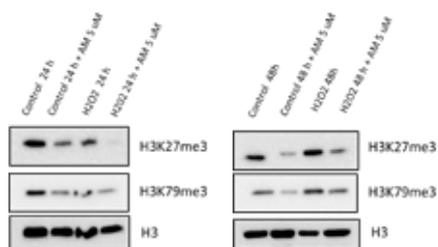
Parámetros clínicos

##### ■ Rojez

- **Decrece en el 80% voluntarios tras 60 min**
- **Un 60% más eficaz que nuestro control**

### 3.-REJUVENECIMIENTO Y LONGEVIDAD CELULAR

Como hemos visto en la introducción, el envejecimiento/deterioro de la cromatina es clave en el envejecimiento de la célula. Revertir este deterioro incidiendo sobre las Histonas (proteínas básicas de la Cromatina) es fundamental.



Izquierda: figura 11. Resultados transcurridas 24 horas. Derecha: Figura 12. Resultados transcurridas 48 horas.

### 3.1.-ESTUDIO SOBRE EL REJUVENECIMIENTO DEL EPIGENOMA

El análisis se ha realizado mediante la técnica de Western blot. Para ello se han aislado en primer lugar las histonas a partir de los cultivos celulares mediante el procedimiento de purificación de histonas mediante extracción ácida. La cantidad de células necesarias para este experimento ha limitado los resultados únicamente a la línea celular de queratinocitos HaCat y solo para las condiciones control y las células tratadas con peróxido de hidrógeno, donde sí se han obtenido suficientes células en cultivo para realizar la purificación de histonas.

#### Se ha estudiado la variación de H3K27me3 y H3K79me3, ya que están relacionadas con el envejecimiento y la senescencia celular.

Existen evidencias sobre la desregulación epigenética en las células durante el envejecimiento celular como consecuencia del ambiente y otros fenómenos estocásticos. Con el envejecimiento, la hipometilación de regiones repetitivas del ADN y la hipermetilación de genes supresores de tumores, va unido a un enriquecimiento de H3K27me3 y H3K4me3 y una disminución H3K27ac y H3K4me1.

La modificación H3K79me3 es crítica en muchos procesos celulares y regula

la estabilidad cromosómica. Además, se ha demostrado que los niveles de H3K79me3 se incrementan tras la inducción del daño al ADN. Esta modificación también se ha propuesto como un reloj molecular que regula la progresión del ciclo celular y lo conecta con los cambios epigenéticos, ya que se ha visto que esta modificación se acumula en las histonas viejas que empaquetan el genoma. Así, las histonas presentes en células quiescentes envejecidas cronológicamente incrementan sus niveles de H3K79me3.

En relación a la senescencia celular se sabe que se produce una acumulación de marcadores de heterocromatina como H3K9me3. También se ha demostrado como fases avanzadas de fibroblastos y células madre mesenquimales incrementan los niveles de H3K27me3 en regiones génicas asociadas a heterocromatina senescente. De hecho, algunos genes implicados en la activación del ciclo celular se silencian por enriquecimiento de la marca H3K27me3 durante la senescencia celular.

Nuestros resultados indican que el ácido maslínico a concentración 5 mM produce una disminución de las marcas asociadas a heterocromatina senescente como son H3K79me3, y H3K27me3 en condiciones basales tanto a las 24 h como a las 48 h de incubación con el ácido maslínico y por lo tanto sugieren que **este activo controla las marcas epigenéticas relacionadas con la senescencia celular**. Igualmente los resultados obtenidos refuerzan la posibilidad de que el ácido maslínico contribuya a disminuir las marcas de senescencia celular inducidas por estrés oxidativo.

#### APLICACIONES

Tratamientos Cosméticos: Este activo está altamente indicado para el tratamiento

de pieles maduras, foto-envejecidas, finas y sin firmeza. La piel recuperará el volumen y grosor perdidos, con una mejora en la redensificación de la piel, el rostro recuperará su morfología, la piel estará mas suave, flexible e hidratada.

Tratamientos para restaurar y reparar la piel dañada: Post solar, post tratamientos estéticos, post depilación, otras agresiones cutáneas ■

#### REFERENCIAS

1. Pungitore CR, Padron JM, Leon LG, Garcia C, Ciuffo GM, Martin VS, Tonn CE. Inhibition of DNA topoisomerase I and growth inhibition of human cancer cell lines by an oleanane from *Junellia aspera* (Verbenaceae). *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2007 May 15;53(3):13-7.
2. He X, Liu RH. Triterpenoids Isolated from Apple Peels Have Potent Antiproliferative Activity and May Be Partially Responsible for Apple's Anticancer Activity. *J Agric Food Chem*. 2007 May 30;55(11):4366-70. Epub 2007 May 8.
3. Saimaru H, Orihara Y, Tansakul P, Kang YH, Shibuya M, Ebizuka Y. Production of triterpene acids by cell suspension cultures of *Olea europaea*. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 2007 May;55(5):784-8.
4. Martin R, Carvalho J, Ibeas E, Hernandez M, Ruiz-Gutierrez V, Nieto ML. Acidic triterpenes compromise growth and survival of astrocytoma cell lines by regulating reactive oxygen species accumulation. *Cancer Res*. 2007 Apr 15;67(8):3741-51.
5. Garcia-Granados A, Lopez PE, Melguizo E, Parra A, Simeo Y. Remote hydroxylation of methyl groups by regioselective cyclopalladation. Partial synthesis of hyptatic acid-A. *J Org*

- Chem. 2007 Apr 27;72(9):3500-9.
6. Stiti N, Triki S, Hartmann MA. Formation of Triterpenoids throughout *Olea europaea* Fruit Ontogeny. *Lipids*. 2007 Feb;42(1):55-67.
  7. Marquez-Martin A, De La Puerta R, Fernandez-Arche A, Ruiz-Gutierrez V, Yaqoob P. Modulation of cytokine secretion by pentacyclic triterpenes from olive pomace oil in human mononuclear cells. *Cytokine*. 2006 Dec;36(5-6):211-7.
  8. Yang ZG, Li HR, Wang LY, Li YH, Lu SG, Wen XF, Wang J, Daikonya A, Kitanaka S. Triterpenoids from *Hippophae rhamnoides* L. and their nitric oxide production-inhibitory and DPPH radical-scavenging activities. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 2007 Jan;55(1):15-8.
  9. Wang YF, Lai GF, Efferth T, Cao JX, Luo SD. New glycosides from *Tetracentron sinense* and their cytotoxic activity. *Chem Biodivers*. 2006 Sep;3(9):1023-30.
  10. Reyes FJ, Centelles JJ, Lupianez JA, Cascante M. (2 $\alpha$ ,3 $\beta$ )-2,3-dihydroxyolean-12-en-28-oic acid, a new natural triterpene from *Olea europea*, induces caspase dependent apoptosis selectively in colon adenocarcinoma cells. *FEBS Lett*. 2006 Nov 27;580(27):6302-10.
  11. Juan ME, Wenzel U, Ruiz-Gutierrez V, Daniel H, Planas JM. Olive fruit extracts inhibit proliferation and induce apoptosis in HT-29 human colon cancer cells. *J Nutr*. 2006 Oct;136(10):2553-7.
  12. Shishodia S, Majumdar S, Banerjee S, Aggarwal BB. Ursolic acid inhibits nuclear factor-kappaB activation induced by carcinogenic agents through suppression of I $\kappa$ B $\alpha$  kinase and p65 phosphorylation: correlation with down-regulation of cyclooxygenase 2, matrix metalloproteinase 9, and cyclin D1. *Cancer Res*. 2003 Aug 1;63(15):4375-83.
  13. Marquez Martin A, de la Puerta Vazquez R, Fernandez-Arche A, Ruiz-Gutierrez V. Suppressive effect of maslinic acid from pomace olive oil on oxidative stress and cytokine production in stimulated murine macrophages. *Free Radic Res*. 2006 Mar;40(3):295-302.
  14. Wen X, Sun H, Liu J, Wu G, Zhang L, Wu X, Ni P. Pentacyclic triterpenes. Part 1: the first examples of naturally occurring pentacyclic triterpenes as a new class of inhibitors of glycogen phosphorylases. *Bioorg Med Chem Lett*. 2005 Nov 15;15(22):4944-8.
  15. Montilla MP, Agil A, Navarro MC, Jimenez MI, Garcia-Granados A, Parra A, Cabo MM. Antioxidant activity of maslinic acid, a triterpene derivative obtained from *Olea europaea*. *Planta Med*. 2003 May;69(5):472-4.
  16. Kim YK, Yoon SK, Ryu SY. Cytotoxic triterpenes from stem bark of *Physocarpus intermedius*. *Planta Med*. 2000 Jun;66(5):485-6.
  17. Xu HX, Zeng FQ, Wan M, Sim KY. Anti-HIV triterpene acids from *Geum japonicum*. *J Nat Prod*. 1996 Jul;59(7):643-5.
  18. Serra C, Lampis G, Pompei R, Pinza M. Antiviral activity of new triterpenic derivatives. *Pharmacol Res*. 1994 May-Jun;29(4):359-66.
  19. Belaouaj A, Kim KS, Shapiro SD (August 2000). "Degradation of outer membrane protein A in *Escherichia coli* killing by neutrophil elastase". *Science* 289 (5482): 1185-8
  20. Raddatz G, Hagemann S, Aran D, Söhle J, Kulkarni PP, Kaderali L, et al. Aging is associated with highly defined epigenetic changes in the human epidermis. *Epigenetics Chromatin* [Internet]. 2013 Jan [cited 2015 Jan 15];6(1):36
  21. Huyen Y, Zgheib O, Ditullio RA Jr., Gorgoulis VG, Zacharatos P, Petty TJ, Shestov EA, Mellert HS, Stavridi ES, Halazonetis TD. 2004. Methylated lysine 79 of histone H3 targets 53BP1 to DNA double-strand breaks. *Nature* 432: 406-411.
  22. Fred van Leeuwen, Floor Frederiks, Marit Terweij, Dirk De Vos & Barbara M. Bakker (2012) News about old histones: A role for histone age in controlling the epigenome, *Cell Cycle*, 11:1, 11-12
  23. Radman-Livaja M, et al. Patterns and mechanisms of ancestral histone protein inheritance in budding yeast. *PLoS Biol* 2011; 9:1001075
  24. Schulze J.M., et al. Linking cell cycle to histone modifications: SBF and H2B monoubiquitination machinery and cell-cycle regulation of H3K79 dimethylation. *Mol Cell* 2009; 35: 626-41.
  25. Kosar M., et al. Senescence-associated heterochromatin foci are dispensable for cellular senescence, occur in a cell type-and insult-dependent manner, and follow expression of p16. *Cell Cycle*. 2011; 10:3, 457-468.
  26. Narita M, et al. Rb-mediated heterochromatin formation and silencing of E2F target genes during cellular senescence. *Cell*. 2003 Jun 13; 113(6):703-16.
  27. Hänzelmann S., et al. Replicative senescence is associated with nuclear reorganization and with DNA methylation at specific transcription factor binding sites. *Clinical* 2015; 7:19
  28. Salama R., et al. Cellular senescence and its effector programs. *Genes and Develop*. 2014; 28:99-114.
  29. Niu Y., et al. Oxidative stress alters global histone modification and DNA methylation. *Free Radic Biol Med*. 2015; 82: 22-8.